

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平2-57175

⑤ Int. Cl.<sup>5</sup>

C 12 N 1/00  
1/20  
5/00

識別記号

F 7421-4B

8515-4B  
8515-4B  
8515-4B

④ 公開 平成2年(1990)2月26日

C 12 N 1/20  
5/00

A  
D

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全4頁)

⑭ 発明の名称 成形培地及びその製造法

⑰ 特 願 昭63-206183

⑱ 出 願 昭63(1988)8月19日

⑲ 発 明 者 橋 爪 秀 一 神奈川県横浜市金沢区並木3丁目7番4-1303号

⑲ 発 明 者 南 村 雅 志 神奈川県綾瀬市寺尾台2丁目22番5号

⑲ 出 願 人 森永製菓株式会社 東京都港区芝5丁目33番1号

明 細 書

1. 発明の名称

成形培地及びその製造法

2. 特許請求の範囲

- (1) 顆粒状あるいはタブレット状に成形した培地。
- (2) 粉末培地を顆粒状あるいはタブレット状にすることを特徴とする培地の成形方法。
- (3) 該顆粒状あるいはタブレット状にするために、含水有機溶剤を用いることを特徴とする請求項2記載の培地の成形方法。
- (4) 該有機溶剤がメチルアルコール、エチルアルコール、プロピルアルコールあるいはブチルアルコールである請求項3記載の培地の成形方法。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、種々の培養用粉末培地を顆粒状あるいはタブレット状に成形した培地及びその成形方法に関するものである。

従来の技術及び発明が解決しようとする課題

従来の動物細胞培養用培地、植物培養用培地、

バクテリア培養用培地は、微粉末状であるため、以下に示すような問題点があった。

- a. 計量あるいは水への投入の際、舞い上がり飛散するため、不都合であった。
- b. 吸湿性の培地が多いため、計量の際、サジあるいは計量容器に付着し、計量操作が不便であり、計量を正確に行うことが難しかった。また、開封後、使用した残りを保存する場合、吸湿、変質等のおそれがあった。
- c. 酸化しやすい物質を含む培地の場合、空気に曝されて、変質しやすかった。
- d. 培地を溶解する際、アワができ溶解しにくかった。

この発明は、このような問題点を解決しようとして行ったものである。

課題を解決するための手段

本発明者らは、微粉末の培地を加工する検討を行った結果、培地を顆粒状あるいはタブレット状にすることに成功し、これが本目的に適合することから、これに基づいて本発明を完成するに至っ

た。

以下に本発明について詳細に説明する。

### (1) 培地

本発明の培地とは、動物細胞培養用培地、植物培養用培地あるいはバクテリア培養用培地を言う。

更に詳しくは、ダルベッコHEM培地(Dulbecco's Modified Eagle Media)、RPMI 1640培地、ハム(Ham's)培地、マッコイ5A培地等の単独あるいは混合した動物細胞培養用培地、ムラシゲ・スーク植物培地、シュート増殖培地A及びB、ガーベラ増殖培地等の植物培養用培地、LB培地、YT培地等のバクテリア培養用培地等を言う。

### (2) 顆粒の作製

顆粒の作製法としては、押し出し造粒法、流動層造粒法あるいは乾式造粒法が利用できる。しかし、培地の場合には、構成する物質の種類、量等が定められているため、顆粒化に適した賦形剤を使用することができず、一部の培地を除いて乾式造粒することは難しい。したがって、主に押し出し造粒あるいは流動層造粒法が用いられる。

-3-

含水有機溶剤の添加量あるいは有機溶剤の含量を変えることにより、顆粒の強度を増減できる。

乾燥させた顆粒状培地を、使用目的に合わせた容量、例えば1リッター、10リッター等の培地用に計量し、防湿性及び空気遮断性の容器に封入、密閉する。

### (3) タブレットの作製

タブレットの作製は、粉末培地を直接打錠するか、あるいは(2)で作製した顆粒状培地を、好ましくはそのまま、必要ならば滑沢剤を添加し打錠することにより行う。この場合のタブレットの大きさは、使用者が、計量する必要のないような大きさとする。例えば1リッターの培地を作るのに適した大きさのタブレットを基本単位とし、10リッターの培地の場合には上記のタブレットを10個使用する。

(2)及び(3)の操作は、室温で短時間で言い得ることから、培地の変性は起こらず安定に保つことができる。

発明の効果

(1)に例示した粉末培地をまず5〜85%の有機溶剤を含む水を用いて適度に湿らせる。有機溶剤としては、メチルアルコール、エチルアルコール、プロピルアルコール、ブチルアルコール等が用いられる。好ましくは、エチルアルコールを用いる。有機溶剤は、市販の特級試薬を用いるのが望ましい。水は目的とする培養物の培養に適する純度の水を使用する。水に対する溶解度が大きく、水の添加により粘度が上がり、顆粒状にすることが困難な培地の場合には、有機溶剤の濃度を上げることにより、顆粒状にすることができる。

培地に適度の湿り気を与えるためには、培地1kg当たり40〜200ml程度の含水有機溶剤を噴霧する。このようにして湿らせた培地を造粒機に供する。造粒機としては市販の縦型あるいは横型等が利用できる。顆粒の大きさとしては直径0.5〜2mm程度、長さ1〜5mm程度とする。次いで、減圧状態で顆粒状培地の乾燥を行う。安定な物質のみから成る培地の場合には、減圧することなく温度を上昇させ、乾燥することもできる。

-4-

粉末培地を顆粒状あるいはタブレット状にすることにより以下に示す効果がある。

- a. 顆粒状培地は微粉末状と異なり飛散することがないことから、計量しやすく、しかも正確に行い得る。
- b. タブレット状培地は、作製する培地量に合わせてタブレットを何個か添加するのみでよいことから、操作が簡単でしかも計量ミスがない。
- c. 吸湿性の培地であっても、顆粒状あるいはタブレット状培地は、計量用容器、サジ等に付着しない。
- d. 酸化しやすい物質を含む培地の場合、顆粒状あるいはタブレット状培地は、微粉末状培地より空気に接触しにくいことから酸化を受けにくい。
- e. 粉末状培地を水に溶解する場合、粉末中に空気が入り込みアワ状となり、溶けにくいことがある。しかし、顆粒状培地は、底に沈み容易に溶解する。

以下本発明の実施例を示す。

実施例1

動物細胞培養用基礎培地である RDF 粉末培地 (RPMI 1640, デルベッコ MEM 及び ハム F-12 培地を 2:1:1 で混合した培地) を顆粒状に成形した。まず、RDF 粉末培地 500g に 50% エチルアルコール含有 2 段蒸留水 約 40ml を培地に均等に行き渡るよう噴霧した。これを造粒機 (菊水社製) で直径 1.2mm のメッシュのパケットを通して、顆粒になるように押し出した。これを、減圧しつつ室温で乾燥した。

このようにして作製した顆粒状 RDF 培地を用い RDF 培養液の作製を行った。計量が容易で、しかも正確に行い得た。また溶解は瞬時に完了した。

#### 実施例 2

実施例 1 により得られた顆粒状 RDF 培地を用いて 100ml 培地用タブレットを作製した。1.3g の顆粒状 RDF 培地を打錠機により厚さ 3mm、直径 18mm 程度のタブレット状にした。タブレット状 RDF 培地を用いた場合、計量を行う必要がなく簡単に培地の調製を行い得た。溶解に要した時間は 2.5 分と短時間であり、容易に RDF 培養液の作製を行い

-7-

容易で、しかも正確に行い得た。また溶解は瞬時に完了した。

#### 実施例 4

実施例 3 により得られた顆粒状 ムラシゲ・スクリュー培地を用いて 100ml 培地用タブレットを作製した。0.47g の顆粒状培地を打錠機により厚さ 1mm、直径 18mm 程度のタブレット状にした。タブレット状培地を用いた場合、計量を行う必要がなく簡単に培養液の調製を行い得た。溶解に要した時間は 3 分と短時間であり、容易に培養液の作製を行い得た。

#### 実施例 5

バクテリア培養用培地である LB 粉末培地を顆粒状に成形した。まず、LB 粉末培地 500g に 95% エチルアルコール含有蒸留水 約 80ml を培地に均等に行き渡るよう噴霧した。これを実施例 1 と同様の方法で造粒機を用いて顆粒状にし、減圧しつつ室温で乾燥した。

このようにして作製した顆粒状 LB 培地を用い LB 培養液の作製を行った。計量が容易で、しかも正

得た。

この培養液を滅菌後、10% ウシ胎児血清 (FCS) を添加した血清培地及び  $5 \mu\text{g/ml}$  インシュリン、 $35 \mu\text{g/ml}$  トランスフェリン、 $20 \mu\text{M}$  エタノールアミン、 $2.5 \text{ nM}$  セレンウムと  $1 \text{ ng/ml}$  ヒト血清アルブミン (ITES/HSA) を添加した無血清培地で、ヒト・ヒトハイブリドーマ HB4C5 (特願昭 63-116289 号) を培養した。第 1 図に示したように、血清培地及び無血清培地において、タブレット状培地は粉末培地と同様、良好なハイブリドーマの増殖が認められた。

#### 実施例 3

植物培養用培地である ムラシゲ・スクリュー粉末培地を顆粒状に成形した。まず、培地 500g に 20% エチルアルコール含有 2 段蒸留水 約 40ml を培地に均等に行き渡るよう噴霧した。これを造粒機で実施例 1 と同様の方法で顆粒状にし、減圧しつつ室温で乾燥した。

このようにして作製した顆粒状 ムラシゲ・スクリュー培地を用い、培養液の作製を行った。計量が

-8-

確に行い得た。また溶解は瞬時に完了した。

#### 実施例 6

実施例 5 により得られた顆粒状 LB 培地を用いて 100ml 培地用タブレットを作製した。2.0g の顆粒状 LB 培地を打錠機により厚さ 5mm、直径 18mm 程度のタブレット状にした。タブレット状培地を用いた場合、計量を行う必要がなく簡単に培養液の調製を行い得た。溶解に要した時間は 5 分と短時間であり、容易に培養液の作製を行い得た。

この培養液をオートクレーブにより滅菌後、大腸菌を培養したところ、粉末培地と同様、良好な増殖が認められた。

#### 4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明のタブレット状 RDF 培地及び粉末培地を用いたハイブリドーマの増殖曲線であり、横軸は時間 (日) を示し、縦軸は細胞密度 ( $\times 10^{-5}$  個 / ml) を示す。また、○は ITES/HSA 添加タブレット状培地を、□は FCS 添加タブレット状培地を、△は ITES/HSA 添加粉末培地を、及び × は、FCS 添加粉末培地をそれぞれ示す。

-9-

-10-

第 1 図

